



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 42 34 392 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
**C 12 C 7/00**  
C 12 H 1/16

②1 Aktenzeichen: P 42 34 392.5  
②2 Anmeldetag: 8. 10. 92  
④3 Offenlegungstag: 14. 4. 94

DE 42 34 392 A 1

⑦1 Anmelder:

Annemüller, Gerolf, Dr., O-1136 Berlin, DE; Manger,  
Hans Jürgen, Dr., O-1156 Berlin, DE; Bauch, Thomas,  
Dipl.-Ing., O-1092 Berlin, DE

⑦2 Erfinder:

gleich Anmelder

⑤6 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht zu ziehende Druckschriften:

DE 30 27 319 C2

⑤4 Verfahren zur Gewinnung von Malzenzymen und deren Einsatz bei der Bierherstellung

⑤7 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur differenzierten Gewinnung von Malzenzymen unmittelbar im Prozeß der Würzeherstellung aus der Brauereimaische mit Hilfe einer Crossflow-Mikrofiltration und der weiteren Aufkonzentrierung der so gewonnenen erwünschten Enzyme sowie der Reduzierung der unerwünschten Proteasen im Malzenzymkonzentrat mit Hilfe einer ein- oder mehrstufigen Crossflow-Ultrafiltrationsanlage. Aufgabe der Erfindung ist es, Malzenzymkonzentrate mit definierten  $\beta$ -glucanabbauenden und  $\alpha$ -amylolytischen oder  $\beta$ -amylolytischen und  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen spaltenden Enzymen herzustellen und diese der Würze oder dem Bier zur Verbesserung der Filtrierbarkeit, zur Nachverzuckerung oder zur Erhöhung des Endvergärungsgrades zuzusetzen. Durch die Erfindung können mangelhafte Malzqualitäten und Fehler in der Prozeßführung, die schlecht filtrierbare Biere, nicht jodnormale Würzen und zu niedrige Endvergärungsgrade verursachen, bei Einhaltung des im deutschen Lebensmittelgesetz verankerten deutschen Reinheitsgebotes für die Bierherstellung behoben werden.

DE 42 34 392 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Malzenzymen und deren Einsatz bei der Bierherstellung, das angewendet werden kann, um mangelhafte Malzqualitäten und Fehler in der Prozeßführung, die zu schlecht filtrierbaren Bieren, zu nicht jodnormalen Würzen und Bieren und zu zu niedrigen Endvergärungsgraden führen, durch den Zusatz der gewonnenen Malzenzymkonzentrate vor der Filtration des Bieres bei Einhaltung des im deutschen Lebensmittelgesetz verankerten Reinheitsgebotes zu beheben.

Bier wird in Deutschland nach dem deutschen Reinheitsgebot nur unter Verwendung von Gerstenmalz, Wasser, Hopfen und Hefe hergestellt. Malz liefert den vergärbaren und unvergärbaren löslichen Extrakt der Bierwürze, wobei die beim Mälzen gebildeten Enzyme, vorwiegend Amylasen, Proteasen und Hemicellulasen einschließlich der  $\beta$ -Glucanasen die hochmolekularen, meist unlöslichen Inhaltsstoffe der Gerste beim Mälzen, und dann besonders beim Maischen im Prozeß der Würzeherstellung in der Brauerei in lösliche Form überführen. Die beim Mälzen erreichte Auflösung des Malzes und der Gehalt an Enzymen im Darrmalz kann in Abhängigkeit von den jahrgangsbedingten Schwankungen der Gerstenqualität und Fehlern bei der Vermalzung in weiten Grenzen schwanken. Fehler in der Malzqualität verursachen Mängel in der Würze- und Bierqualität und äußern sich vor allem in einer schlechten Filtrierbarkeit der Biere durch einen zu hohen Gehalt an hochmolekularen  $\beta$ -Glucanen, insbesondere wenn sie in Gelform vorliegen. (Wagner, N. —  $\beta$ -Glucan im Bier und Bedeutung dieser Stoffgruppe für die Bierfiltration — Dissertation — TU Berlin 1990) oder in einem unzureichendem Stärkeabbau, wobei die hochmolekularen  $\alpha$ -Glucane in Würze und Bier ebenfalls die Klärung und Filtrierbarkeit des Bieres entscheidend negativ beeinflussen können (Annemüller, G. — Ein Beitrag zur Optimierung der Bierwürzequalität — Dissertation B, Humboldt-Universität zu Berlin 1986 und Annemüller, G. — Monatsschrift für Brauwissenschaft 44, 1991 S. 64—72). Die Ursachen für Filtrationsprobleme können außer von der Malzqualität auch durch eine unzureichende Malzzerkleinerung, ein zu wenig intensives Maischverfahren und Fehler in der Verfahrensführung verursacht werden. Diese Filtrationsprobleme treten regelmäßig auf (s. Brauwelt 112, 1972, S. 1152) und verursachen schwerwiegende wirtschaftliche Nachteile für die betroffenen Brauereien. Sie können in der deutschen Brauindustrie nur zum Teil unter erheblichen Aufwendungen behoben werden. Während in der ausländischen Brauindustrie bei schwer zu verarbeitenden Rohstoffqualitäten bakterielle und pilzliche Enzympräparate mit definierten amylytischen, proteolytischen und  $\beta$ -Glucanaseaktivitäten sowohl beim Maischen als auch als Filtrationsenzym im Prozeß der Gärung und Reifung sehr rationell und wirkungsvoll eingesetzt werden (s. DE-OS 23 52 906 "Verfahren zur Herstellung von Bierwürze unter Verwendung von Enzymen" vom 25.10.72; Bauer, B. — Einsatz von Cellulasepräparaten im Prozeß der Bierherstellung und deren Auswirkungen auf die Qualität des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Filtrierbarkeit und der Schaumhaltbarkeit — Dissertation A — Humboldt-Universität zu Berlin, 1990), sind nach dem in Deutschland geltenden Lebensmittelgesetz auf der Grundlage des ältesten noch geltenden Lebensmittelgesetzes der Welt, des deutschen Reinheitsgebotes von 1516, derartige Enzympräparate für die Bierherstellung nicht zugelassen. Mangelhafte Malzqualitäten können Brauereien nur durch ein intensiveres Maischen des cytolitisch nicht ausreichend gelösten Malzes im Temperaturbereich zwischen 35 und 52°C beheben. In diesem Temperaturbereich wirken die Malzenzyme, welche die hochmolekularen und gelbildenden  $\beta$ -Glucane abbauen, die Endo- $\beta$ -Glucanasen, am besten. Da aber im gleichen Temperaturbereich die proteolytischen Malzenzyme optimal wirken, die besonders die schaumpositiven mittleren Eiweißabbauprodukte weiter abbauen, wird bei einer Intensivierung dieser Maischtemperaturen zwar die Filtrierbarkeit der Biere verbessert, aber ihre Schaumhaltbarkeit nachhaltig und irreparabel geschädigt, so daß diese technologische Maßnahme nur sehr begrenzt und mit einem Qualitätsrisiko verbunden anwendbar ist (Narziß, L. — Die Bierbrauerei 2. Band: Technologie der Würzebereitung, 6. Auflage, F.-Enke-Verlag Stuttgart, 1985). Altbekannt ist die Möglichkeit, nicht ausreichend "verzuckerte", nicht jodnormale Würzen und Biere durch Malzauszüge (Malz-Wasser-Mischungen, geklärt durch Sedimentation) oder Vorderwürzen in der Prozeßstufe Gärung und Reifung durch eine Wirkung der  $\alpha$ -Amylase des Malzes nachzuverzuckern und so die Klärung und Filtrierbarkeit zu verbessern. Die Nachteile dieser Notmaßnahme sind erhöhte Infektionsverfahren durch die unsterilen Malzauszüge und Vorderwürzen und die Gefahr einer nachhaltigen Schaumschädigung, da neben der für die Nachverzuckerung notwendigen  $\alpha$ -Amylase auch die Proteasen des Malzes in unkontrollierter Menge in das Bier kommen und bis zu einer eventuell vorgenommenen thermischen Inaktivierung (Pasteurisieren) auch im filtrierten Bier wirken können. Um Diabetikerbier in Deutschland nach dem deutschen Reinheitsgebot herstellen zu können, wendet man diese Maßnahme bewußt an, meist unter Verwendung von enzymreichem und weitgelöstem Diätmalz, um die nicht-vergärbaren hochmolekularen Stärkeabbauprodukte in vergärbare Zucker umwandeln zu können und nimmt eine schlechte Schaumhaltbarkeit bewußt in Kauf (s. Krüger, E. und Anger, H.M. Kennzahlen zur Betriebskontrolle und Qualitätsbeschreibung in der Brauwirtschaft — Behr's Verlag Hamburg 1990). Treten  $\beta$ -Glucan auscheidungen in den Prozeßstufen der Gärung und Reifung auf oder liegt der  $\beta$ -Glucangehalt deutlich über 200 mg/l Bier, sind Filtrationsprobleme insbesondere bei der Verwendung von zylindronischen Großtanks für die Gärung, Reifung und Lagerung des Bieres unvermeidbar. Als bisher einzige Notmaßnahme wird eine kurzzeitige Erwärmung des Bieres (sog. Cracken) im Durchlauferhitzer auf Temperaturen über 60°C, vorzugsweise 75 bis 80°C, empfohlen und angewendet. Dadurch wird der Vorgang der Gelbildung aus kolloidal gelöstem  $\beta$ -Glucan wieder rückgängig gemacht (Esser, K.D. — Brauwelt 129, 1989, 5, S. 177). Zur vollständigen Lösung von  $\beta$ -Glucangelen sind jedoch Temperaturen von über 80°C notwendig, da es sonst nach der Abkühlung zum Wiederausfallen von  $\beta$ -Glucangel kommt. (Wagner, N. —  $\beta$ -Glucane im Bier und Bedeutung dieser Stoffgruppe für die Bierfiltration — Dissertation — TU Berlin 1990). Diese thermische Behandlung unmittelbar vor der Filtration kann zu qualitativen Schäden im Bier führen, besonders wenn das unfiltrierte Bier vor der thermischen Behandlung schon geringe Mengen an Sauerstoff enthält. Weiterhin wird die sich in der Lagerphase des Bieres bereits ausgebildete Kältetribung vor der Filtration durch die thermische Behandlung aufgelöst und

nach dem Abkühlen auf Grund der Kürze der Zeit nicht in dem gewünschten Umfang vor der Filtration zum Zwecke ihrer Abscheidung wieder gebildet. Zusätzliche Aufwendungen zur Erhöhung der kolloidalen Stabilität sind erforderlich.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren anzugeben, daß zur Gewinnung von Malzenzymen und deren Einsatz bei der Bierherstellung angewendet werden kann, um die Auswirkungen von mangelhaften Malzqualitäten und Fehlern in der Prozeßführung, die zu schlecht filtrierbaren Bieren, zu nicht jednormalen Würzen und Bieren und zu zu niedrigen Endvergärungsgraden führen, noch vor der Bierfiltration zu beheben. Erfindungsgemäß wird parallel zum normalen Maischprozeß, ohne zusätzliches Malz und ohne Verlängerung der üblichen Maischzeit bei ausgewählten Maischtemperaturen ein Teilstrom der Maische über eine Crossflow-Mikrofiltrationsanlage gepumpt, um ein keimfreies, enzymhaltiges Filtrat zu erhalten. Das Retentat wird in die gleiche oder in eine andere Brauereimaische zurückgeleitet. Es werden solche Filtrationsmodule verwendet, die auf Grund ihrer Spaltbreite und unter Berücksichtigung des Zerkleinerungsgrades des Schrotens einen störungsfreien Durchsatz der Maische ermöglichen. Vorzugsweise sind Röhrenmodule mit einem Röhrendurchmesser zwischen 4 und 10 mm, bei Läuterbottichschroten zwischen 6 und 8 mm, einzusetzen. Zur Gewinnung eines keimfreien, enzymhaltigen Filtrates mit der Crossflow-Mikrofiltrationsanlage sind Module mit einer Porenweite zwischen 0,1 und 0,3 µm, vorzugsweise von 0,2 µm zu verwenden. Zur differenzierten Gewinnung der einzelnen Malzenzympräparate wird die Gewinnung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates aus der Brauereimaische bei folgenden Temperaturen vor dem Kochmaischeziehen durchgeführt: für ein β-glucanasehaltiges Malzenzympräparat zur Verbesserung der Filtrierbarkeit bei Maischtemperaturen zwischen 35 und 55°C, vorzugsweise zwischen 45 und 52°C; für ein α-amylasehaltiges Malzenzympräparat zur Nachverzuckerung von Würzen und zum weiteren enzymatischen Abbau von klär- und filtrationerschwierenden höheren Stärkeabbauprodukten zwischen 65 und 75°C, vorzugsweise zwischen 68 und 72°C und für ein β-amylasehaltiges und ein α-1,6-glycosidische Bindungen spaltendes Malzenzympräparat zur Erhöhung des Endvergärungsgrades und zur Herstellung von Diabetikerbier bei Maischtemperaturen zwischen 50 und 65°C, vorzugsweise zwischen 55 und 62°C. Die Pumpenleistung für den Teilstrom der Maische durch die Crossflow-Mikrofiltrationsanlage muß unter Berücksichtigung des Querschnittes der Röhren z. B. eines Röhrenmoduls und des zu erwartenden Druckverlustes eine Überströmgeschwindigkeit in den Röhren von über 2 m/sec, vorzugsweise 4 bis 5 m/sec, garantieren, um eine Minimierung der Deckschicht in den Röhren zu sichern. Die Filterfläche der Crossflow-Mikrofiltrationsanlage muß in ihrer Auslegungsgröße bei einem durchschnittlichen Filtratvolumenstrom von mindestens 2 l/m<sup>2</sup>·min die Gewinnung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates von durchschnittlich 1%, vorzugsweise 0,4 bis 0,7% des Brauereimaischevolumens innerhalb von 30 min gewährleisten. Das keimfreie, enzymhaltige Filtrat wird anschließend wahlweise in ein- oder mehrstufigen Crossflow-Ultrafiltrationsanlagen mit ausgewählten nominellen Molekulargewichtstrenngrenzen so aufkonzentriert, daß die gewünschten Enzyme zur Verbesserung der Filtrierbarkeit, zur Nachverzuckerung oder zur Erhöhung des Endvergärungsgrades angereichert und die die Schaumhaltbarkeit schädigenden proteolytischen Enzyme reduziert werden. Die Aufkonzentrierung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates mit einer ein- oder mehrstufigen Crossflow-Ultrafiltrationsanlage soll bei einem Filtratstrom von mindestens 0,6 bis 0,7 l/m<sup>2</sup>·min durch die Filterflächenauslegung eine Malzenzymkonzentrierung mit einer 5 bis 20-fachen, vorzugsweise 10-fachen Konzentration gegenüber dem keimfreien, enzymhaltigen Filtrat höchstens 60 min dauern. Bei einem einstufigen Prozeß wird das Filtrat in die Brauereimaische zurückgepumpt und das Retentat als Malzenzymkonzentrat verwendet, bei einem zweistufigen Prozeß wird das Retentat der ersten Crossflow-Ultrafiltrationsstufe und das Filtrat der zweiten Crossflow-Ultrafiltrationsstufe in die Brauereimaische zurückgepumpt und das Retentat der zweiten Stufe als Malzenzymkonzentrat verwendet. Für die Crossflow-Ultrafiltrationsanlage werden zur Gewinnung eines β-glucanase- und α-amylasehaltigen sowie proteasearmen Malzenzymkonzentrates aus dem keimfreien, enzymhaltigen Filtrat, das zur Verbesserung der Filtrierbarkeit und zur Nachverzuckerung eingesetzt werden kann, in einer einstufigen Konzentrierung Module mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze je nach Membranmaterial zwischen 40 000 und 60 000 Dalton, vorzugsweise 50 000 Dalton, verwendet. Für die Gewinnung eines β-amylasehaltigen und eines α-1,6-glycosidische Bindungen spaltenden, sowie proteasearmen Malzenzymkonzentrates, das zum weiteren enzymatischen Abbau von unvergärbaren α-Glucanen in vergärbare Zucker und zur weiteren Erhöhung des Endvergärungsgrades eingesetzt werden kann, werden in einer zweistufigen Konzentrierung Module mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze je nach Membranmaterial in der ersten Stufe mit ca. 50 000 bis 60 000, vorzugsweise 50 000 Dalton, zur Gewinnung eines β-glucanasearmen Filtrates und in der zweiten Konzentrierungsstufe mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze von ca. 35 000 bis 45 000 Dalton, vorzugsweise 40 000 Dalton, zur Gewinnung eines proteasearmen Malzenzymkonzentrates verwendet. Die gewonnenen Malzenzymkonzentrate können dem gleichen oder einem folgenden Sud während der Würzekühlung bei Temperaturen unter 55°C oder zu einem späteren Zeitpunkt der Gärung und Lagerung des Bieres, vorzugsweise jedoch der kalten Würze vor dem Anstellen, in Abhängigkeit von der Würzequalität, der Höhe der gewünschten Veränderungen und der vorher erreichten Konzentrierung des Malzenzymkonzentrates in einer solchen Menge zugesetzt werden, daß die gewünschten qualitativen Veränderungen der Filtrierbarkeitsverbesserung, Nachverzuckerung oder Endvergärungsgraderhöhung durch das Malzenzymkonzentrat in Abhängigkeit von der betrieblichen Technologie in der gewünschten Zeit erfolgen, ohne eine Verlängerung der Prozeßdauer und ohne Schaumschädigung. Bei einer rohstoffbedingten, geringen proteolytischen Aktivität bereits im keimfreien, enzymhaltigen Filtrat kann dieses auch ohne weitere Konzentrierung, jedoch in deutlich erhöhter Menge gegenüber dem Konzentrat der kalten Anstellwürze zur Verbesserung der Filtrierbarkeit direkt zugesetzt werden. Zum Zwecke der Bevorratung kann das keimfreie, enzymhaltige Filtrat oder das Malzenzymkonzentrat durch Gefrierlagerung oder Gefriertrocknung für längere Lagerzeiten vor mikrobiellen Veränderungen geschützt werden.

Die vorliegende Erfindung schlägt ein Verfahren zur Gewinnung von Malzenzymkonzentraten im Prozeß der

Würzeherstellung vor, die unter Einhaltung des im deutschen Lebensmittelgesetz verankerten deutschen Reinheitsgebotes zur Optimierung der Bierherstellung genutzt werden können.

## Beispiel 1

- 5 Die Auslegung der erforderlichen Crossflow-Mikro- und Ultrafiltrationsanlage werden die folgende Mengenbilanz und der Enzymkonzentratbedarf für eine Modellbrauerei aus klein- und labortechnischen Filtrationskennwerten hochgerechnet:
- 10 Modellbrauerei:
- Sudhaus:  
Schüttung 10 t/Sud  
Maischevolumen rd. 450 hl/Sud ( $\Delta$  VW = 16%)
  - 15 kalte Anstellwürze: rd. 620 hl/Sud (St = 12%)
  - Gärung:  
2500 hl  $\sim$  ZKT  $\Delta$  4 Sud/ZKT
  - Enzymkonzentratbedarf:  
bisher maximale Dosage: 60 ml/hl Würze
  - 20  $\Delta$  150 l Enzymkonzentrat/ZKT
  - Erforderliche Filtratmenge (0,2  $\mu$ m):  
bei Konzentrierung 1 : 10  
15 hl  $\Delta$  rd. 4 hl/Sud
  - rd. 0,6% des Maischevolumens
  - 25 — Erforderliche Filterfläche zur Filtratgewinnung  
(Crossflow 0,2  $\mu$ m)
  - kleintechnische Filterleistung  $\dot{V}_1 = 2 \text{ l/m}^2 \cdot \text{min}$
  - Ziel: 4 hl/Sud in 30 min  $\rightarrow 6,7 \text{ m}^2$
  - erforderliche Crossflow-Keramikmodul-Filterfläche
  - 30 — Erforderliche Filterfläche zur Konzentratgewinnung:  
(Konzentrierung 1 : 10)
  - kleintechnische/Laboranlage:  
 $\dot{V}_2 = 0,6 \dots 0,7 \text{ l/m}^2 \cdot \text{min}$  Filtrat
  - 4 hl  $\rightarrow$  40 l in 60 min  $\rightarrow 9 \text{ m}^2$
  - 35 erforderliche Crossflow-Membranfilterfläche

## Beispiel 2

- Es soll aus dem keimfreien, enzymhaltigen Filtrat (0,2  $\mu$ m) ein  $\beta$ -glucanasehaltiges Malzenzymkonzentrat zur
- 40 Verbesserung der Filtrierbarkeit des Bieres gewonnen werden, ohne daß die Schaumhaltbarkeit geschädigt wird. Die zur Aufkonzentrierung der gewünschten  $\beta$ -Glucan abbauenden Enzymaktivitäten (hier charakterisiert und bestimmt als  $\beta$ -Glucanase- und Lichenaseaktivität) und zur Reduzierung der unerwünschten, schaumschädigenden proteolytischen Aktivität (hier bestimmt als Endopeptidaseaktivität) zu verwendenden Crossflow-Ultra-
- 45 filtrationsanlagen werden in ihrer Trennwirksamkeit am besten nach ihrer Selektivität  $\phi$  beurteilt (Lit.: Verfahrenstechnische Berechnungsmethoden, Teil 3: Mechanisches Trennen in fluider Phase, Ausrüstungen und ihre Berechnungen — VEB Deutscher Verlag für die Grundstoffindustrie, Leipzig 1981):

$$\phi = 1 - \frac{C_F}{C_L}$$

- 50
- $C_F$ ... Konzentration des Filtrates  
 $C_L$ ... Konzentration der Lösung

- 55 Unter der Voraussetzung, daß  $A_{\text{Enzym}} \sim C_{\text{Enzym}}$  ist, kann  $\phi$  nach folgender Formel ermittelt werden:

$$\phi = 1 - \frac{A_F}{A_R}$$

- 60
- $C_{\text{Enzym}}$ ... Konzentration des Enzymes  
 $A_{\text{Enzym}}$ ... Enzymaktivität (allgemein)  
 $A_F$ ... Enzymaktivität im Filtrat  
 $A_R$ ... Enzymaktivität im Retentat

- 65 Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Überprüfung unterschiedlicher Membrantypen mit drei unterschiedlichen nominellen Molekulargewichtstrenngrenzen:

Tabelle 1: Erzielte Selektivitätswerte mit Ultrafiltrationsmembranen

		$\beta$ -Glucanase	Lichenase	Endopeptidase	
Ziele		$\phi \rightarrow 1$	$\phi \rightarrow 1$	$\phi \rightarrow 0$	5
Nominelle Molekulargewichts- trenngrenzen [Dalton]					10
100.000	Sartorius Cellulose- acetat	n.b.	0,04 ... 0,21	0,05 ... 0,58	15
65.000	Schenk PVDF/Glas- faser	0,32 ... 0,38	0,07 ... 0,13	0,33 ... 0,50	20
50.000	Schenk Polysulfon	0,93 ... 1,00	0,26 ... 0,68	0,45 ... 0,55	25
					30

(n.b. = nicht bestimmt)

Die verwendete Ultrafiltrationsmembran aus Polysulfon mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze von 50 000 Dalton garantierte den gewünschten Erfolg der fast 100%igen Anreicherung der erwünschten  $\beta$ -Glucanaseaktivität und eine ca. 50%ige Reduzierung der proteolytischen Aktivität bei einem Konzentrationsvorgang.

## Beispiel 3

Der Zusatz eines  $\beta$ -glucanabbauenden Malzenzymkonzentrates mit einer Lichenaseaktivität von 110 U/l (Herstellung wie Beispiel 2, Konzentrierung 23fach) zu kalten Anstellwürzen, die mit drei unterschiedlichen Infusionsmaischverfahren (Einmaischtemperatur 35°C, 51°C und 63°C) hergestellt wurden, führte bei kalter klassischer Gärung (7 Tage bei 8°C) und Reifung (3 Tage bei 15°C und 14 Tage bei 0°C) zu den in Tabelle 2 ausgewiesenen qualitativen Veränderungen des Bieres gegenüber den Vergleichsbieren ohne Enzymkonzentratzusatz. Es kam zu deutlichen Filtrierbarkeitssteigerungen, die um so höher waren, je höher der ausgewiesene Enzymkonzentratzusatz war und je schlechter die Filtrierbarkeit des Vergleichsbieres. Obwohl der mit der Flow-Injection-Analysis (FIA) nachweisbare  $\beta$ -Glucangehalt der Biere durch den Enzymkonzentratzusatz völlig abgebaut wurde, kam es zu keiner signifikanten Veränderung der Schaumhaltbarkeit und in der sensorischen Bewertung.

Tabelle 2: Dosage von Malzenzymkonzentrat beim Anstellen

Variante	1 (35°C)	2 (51°C)	3 (63°C)
Enzymgabe [ml/l AW]	0 +0,2	0 +0,6	0 +0,6
Filtrierbarkeit nach ESSER, $M_{\max}$ [g]			
0,3 $\mu$ m Synpor	152 $\rightarrow$ 223 +47%	82 $\rightarrow$ 214 +161%	75 $\rightarrow$ 281 +275%
0,2 $\mu$ m Sartorius	94 $\rightarrow$ 100 +6%	63 $\rightarrow$ 96 +52%	68 $\rightarrow$ 124 +82%
Schaumhaltbarkeit (NIBEM) [sec]	244 $\rightarrow$ 223 -9%	343 $\rightarrow$ 407 +19%	296 $\rightarrow$ 256 -14%
$\beta$ -Glucangehalt Bier [mg/l] (St=12%) FIA	130 $\rightarrow$ 0 -100%	417 $\rightarrow$ 0 -100%	442 $\rightarrow$ 0 -100%

(AW = Anstellwürze, FIA = Flow-Injection-Analysis)

## Beispiel 4

Der Zusatz eines  $\beta$ -glucanabbauenden Malzenzymkonzentrates mit einer Lichenaseaktivität von 33,8 U/l (Herstellung wie Beispiel 2, Konzentrierung 10fach) zu einem Bier in der Reifungsphase (6 Tage bei 15°C und 1 Tag bei 0°C) führte zu den in Tabelle 3 ausgewiesenen qualitativen Veränderungen gegenüber dem Vergleichsbier. Hier ist die Filtrierbarkeitsverbesserung nicht so hoch wie im Beispiel 3 (Enzymdosage vergleichbar mit Variante 1), so daß diese Verfahrensweise nur als nachträgliche Korrekturvariante zu empfehlen ist. Das  $\beta$ -glucanabbauende Malzenzymkonzentrat ist wirkungsvoller in der Angärphase, d. h. im pH-Bereich zwischen 5,5 (Würze) und 4,5 (Jungbier).

Tabelle 3: Malzenzymkonzentratzusatz zur Reifungsphase

Enzymzugabe [ml/l Bier]	0	0,6	% Veränderung
Filtrierbarkeit 0,3 $\mu$ m Synpor nach ESSER	50	63	+ 26
$M_{\max}$ [g] 0,2 $\mu$ m Sartorius	31	34	+ 10
$\beta$ -Glucangehalt im Bier (FIA) [mg/l] (St: 12 %)	479	133	- 72 %

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Gewinnung von Malzenzymen und deren Einsatz zur Bierherstellung, dadurch gekennzeichnet, daß parallel zum normalen Maischprozeß ohne zusätzliches Malz und ohne Verlängerung der üblichen Maischzeit bei ausgewählten Maischtemperaturstufen ein Teilstrom der Maische unter Zurückleitung des Retentates in die gleiche oder in eine andere Brauereimaische durch eine bekannte Crossflow-Mikrofiltrationsanlage unter Verwendung von Filtrationsmodulen mit Spaltbreiten, die einen störungsfreien Durchsatz von Maische ermöglichen, und mit einer solchen Porenweite gepumpt wird, die ein keimfreies, enzymhaltiges, schon zum Zusatz in den nachfolgenden Prozeßstufen der Bierherstellung geeignetes Filtrat

garantiert, das anschließend wahlweise in ein- oder mehrstufigen, bekannten Crossflow-Ultrafiltrationsanlagen mit ausgewählten Molekulargewichtstrenngrenzen so aufkonzentriert wird, daß die gewünschten Enzyme zur Verbesserung der Filtrierbarkeit, zur Nachverzuckerung oder zur Erhöhung des Endvergärungsgrades angereichert und die die Schaumhaltbarkeit schädigenden proteolytischen Enzyme so reduziert werden, daß das gewonnene Malzenzymkonzentrat dem gleichen oder einem folgenden Sud beim Abkühlen der Würze, vorzugsweise der kalten Anstellwürze, oder zum gärenden oder reifenden Bier in einer solchen Menge zugesetzt werden kann, daß die gewünschte Filtrierbarkeitsverbesserung, Nachverzuckerung oder Endvergärungsgraderhöhung in dem erforderlichen Umfang ohne Verlängerung der Prozeßdauer und ohne Schaumschädigung eintritt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur differenzierten Gewinnung eines  $\beta$ -glucanasehaltigen Malzenzympräparates zur Verbesserung der Filtrierbarkeit die Gewinnung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates aus der Brauereimaische bei Maischtemperaturen zwischen 35 und 55°C vor dem Ziehen einer Kochmaische erfolgt.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur differenzierten Gewinnung eines  $\alpha$ -amylasehaltigen Malzenzympräparates zur Nachverzuckerung von Würzen und zum weiteren enzymatischen Abbau von klär- und filtrationserschwerenden höheren Stärkeabbauprodukten im Prozeß der Gärung und Reifung des Bieres die Gewinnung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates aus der Brauereimaische bei Maischtemperaturen zwischen 65 und 75°C erfolgt.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur differenzierten Gewinnung eines  $\beta$ -amylasehaltigen und eines  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen spaltenden Malzenzympräparates zur Erhöhung des Endvergärungsgrades, vorzugsweise zur Herstellung von Diabetikerbier, die Gewinnung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates aus der Brauereimaische bei Maischtemperaturen zwischen 50 und 65°C vor dem Ziehen einer Kochmaische erfolgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Gewinnung eines keimfreien, enzymhaltigen Filtrates mit einer Crossflow-Mikrofiltrationsanlage Module mit einer Porenweite zwischen 0,1 und 0,3  $\mu\text{m}$  verwendet werden.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Gewinnung eines keimfreien, enzymhaltigen Filtrates aus Brauereimaische zur störungsfreien Durchströmung, je nach Zerkleinerungsgrad des Malzschrotes Röhrenmodule mit einem Röhrendurchmesser zwischen 4 und 10 mm, vorzugsweise für normale Läuterbottischschrote Durchmesser zwischen 6 und 8 mm, verwendet werden.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Leistung der Pumpe für die Förderung des Teilstromes der Maische durch das Röhrenmodul so ausgelegt wird, daß zur Minimierung der Deckschicht in den Röhrenmodulen der Crossflow-Mikrofiltrationsanlage entsprechend dem Querschnitt der Röhren und dem zu erwartenden Druckverlust die Überströmgeschwindigkeit in den Röhren der Anlage über 2 m/sec garantiert.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Filterfläche der Crossflow-Mikrofiltrationsanlage so groß ausgelegt wird, daß die erforderliche Menge des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates von durchschnittlich 1%, vorzugsweise 0,4 ... 0,7%, des Brauereimaischenvolumens mit einem durchschnittlichen Filtratvolumenstrom von mindestens 2 l/m<sup>2</sup>·min innerhalb von 30 min gewonnen wird, um eine günstige Enzymzusammensetzung ohne Störung des Brauereimaischverfahrens zu gewährleisten.

9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Aufkonzentrierung des keimfreien, enzymhaltigen Filtrates mit einer ein- oder mehrstufigen Crossflow-Ultrafiltrationsanlage so erfolgt, daß bei einem Filtratstrom von mindestens 0,6 ... 0,7 l/m<sup>2</sup>·min bei einem einstufigen Prozeß das Filtrat in die Brauereimaische zurückgepumpt und das Retentat als Malzenzymkonzentrat verwendet oder bei einem mehrstufigen Prozeß das Retentat der ersten Crossflow-Ultrafiltrationsstufe und das Filtrat der zweiten Crossflow-Ultrafiltrationsstufe in die Brauereimaische zurückgepumpt und das Retentat der zweiten Stufe als Malzenzymkonzentrat verwendet werden und die Filterflächen so groß ausgelegt werden, daß die Herstellung von Malzenzymkonzentrat mit einer 5- bis 20-fachen, vorzugsweise 10-fachen Konzentration gegenüber dem keimfreien, enzymhaltigen Filtrat höchstens 60 min dauert.

10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Module für die Crossflow-Ultrafiltrationsanlage zur Gewinnung eines  $\beta$ -glucanase- und  $\alpha$ -amylasehaltigen sowie proteasearmen Malzenzymkonzentrates aus dem keimfreien, enzymhaltigen Filtrat zur Verbesserung der Filtrierbarkeit und zur Nachverzuckerung in einer einstufigen Konzentrierung Module mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze je nach Membranmaterial zwischen 40 000 und 60 000 Dalton verwendet werden.

11. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Module für die Crossflow-Ultrafiltrationsanlage zur Gewinnung eines  $\beta$ -amylasehaltigen und eines  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen spaltenden sowie proteasearmen Malzenzymkonzentrates zum weiteren enzymatischen Abbau von unvergärbaren  $\alpha$ -Glucanen in vergärbare Zucker und zur wesentlichen Erhöhung des Endvergärungsgrades in einer zweistufigen Konzentrierung Module mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze je nach Membranmaterial in der ersten Stufe mit ca. 50 000 bis 60 000 Dalton, vorzugsweise 50 000 Dalton, zur Gewinnung eines  $\beta$ -glucanasearmen Filtrates und in der zweiten Konzentrierungsstufe mit einer nominellen Molekulargewichtstrenngrenze von ca. 35 000 bis 45 000 Dalton zur Gewinnung eines proteasearmen Malzenzymkonzentrates verwendet werden.

12. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das hergestellte Malzenzymkonzentrat zur Erzielung einer Filtrierbarkeitsverbesserung, Nachverzuckerung oder Erhöhung des Endvergärungsgrades der Würze des gleichen Sudes oder eines nachfolgenden Sudes während der Würzekühlung bei Temperaturen unter 55°C oder zu einem späteren Zeitpunkt der Gärung und Lagerung des Bieres, vorzugsweise jedoch der kalten Würze vor dem Anstellen, in Abhängigkeit von der Würzequalität, der Höhe der

gewünschten Veränderungen und der vorher erreichten Konzentrierung des Malzenzymkonzentrates in einer solchen Menge zugesetzt werden, daß die gewünschten qualitativen Veränderungen durch das Malzenzymkonzentrat in Abhängigkeit von der betrieblichen Technologie in der gewünschten Zeit erfolgen.

5 13. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß bei einer rohstoffbedingten geringen proteolytischen Aktivität im keimfreien, enzymhaltigen Filtrat dieses auch ohne weitere Konzentrierung, jedoch in deutlich erhöhter Menge gegenüber dem Konzentrat der kalten Anstellwürze zur Verbesserung der Fil-

10 14. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das keimfreie, enzymhaltige Filtrat oder das Malzenzymkonzentrat zum Zwecke der Bevorratung durch Gefrierlagerung oder Gefriertrocknung für längere Lagerzeiten vor mikrobiellen Veränderungen geschützt wird.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65